

VIABILIDAD DE LAS CÉLULAS DEL LIGAMENTO PERIODONTAL USANDO SOLUCIÓN GENÉRICA DE HANK. ESTUDIO IN VITRO

VIABILITY OF PERIODONTAL LIGAMENT CELLS USING GENERIC HANK'S SOLUTION. IN VITRO STUDY

VIABILIDADE DE CÉLULAS DE LIGAMENTO PERIODONTAL UTILIZANDO A SOLUÇÃO DE GENERIC HANK. ESTUDO IN VITRO

KELVIN PAUL COBO GRANDA¹, JESSY GABRIELA UNAPANTA YANCHAGUANO¹

¹ Universidad Católica de Santiago de Guayaquil; Guayaquil, Ecuador

RESUMEN

Introducción: un diente avulsionado puede ser reimplantado sin complicaciones si la reimplantación ocurre dentro de los primeros 20 minutos cuando se almacena en un medio seco, este tiempo puede aumentar de 1 a 3 horas si el diente se coloca en una solución de transporte adecuada hasta el momento de la reimplantación. **Objetivo:** reproducir una solución de transporte de uso exclusiva para la viabilidad celular del diente avulsionado en el Ecuador. **Metodología:** se usaron 62 dientes recientemente extraídos, y se almacenaron en las diferentes soluciones de transporte: leche, save a tooth, solución genérica de Hank (SGH), agua, suero fisiológico y Gatorade a distintos tiempos de almacenamiento: 30, 60 y 120 minutos, se procedió a realizar un raspaje del tercio apical con bisturí sobre una placa para luego ser teñidas y analizadas bajo microscopía. **Resultados:** los valores más altos de viabilidad celular se dieron en la temperatura de 9.5°C, (SGH 75%, suero 70%, agua de la llave 70%, leche 60%, gatorade 60%). Sin embargo a temperatura de 23.5°C, el único resultado representativo fue el de la SGH con 60% de viabilidad celular mientras que las otras soluciones no presentaban rangos representativos de viabilidad celular (Suero 45%, agua de la llave 40%, leche 25%, gatorade 45%). **Conclusiones:** la SGH presentó resultados superiores en viabilidad celular del ligamento periodontal a temperatura de 23.5°C (temperatura ambiente) en comparación con las otras soluciones de transporte.

PALABRAS CLAVE: avulsión dental, solución salina balanceada de Hank, solución de transporte, viabilidad celular, fibroblastos.

ABSTRACT

Introduction: an avulsed tooth can be reimplanted without complications if the reimplantation occurs within the first 20 minutes when stored in a dry environment. This time can increase from 1 to 3 hours if the tooth is placed in a suitable transport solution until the time of reimplantation. **Objective:** to reproduce a transport solution of exclusive use for the cellular viability of the avulsed tooth in Ecuador. **Methodology:** 62 recently extracted teeth were used, and they were stored in the different transport solutions: milk, save a tooth, generic Hank's solution (GHS), water, saline, and Gatorade at different storage times: 30, 60, and 120 minutes, the apical third was scraped with a scalpel on a plate to later be stained and analyzed under microscopy. **Results:** the highest values of cell viability occurred at a temperature of 9.5°C (GHS 75%, serum 70%, tap water 70%, milk 60%, Gatorade 60%). However, at a temperature of 23.5°C, the only representative result was that of the GHS with 60% cell viability while the other solutions did not present representative ranges of cell viability (Serum 45%, tap water 40%, milk 25%, Gatorade 45%). **Conclusions:** GHS showed superior results in cell viability of the periodontal ligament at a temperature of 23.5°C (room temperature) compared to the other transport solutions. **Keywords:** dental avulsion, Hank's balanced saline solution, transport solution, cell viability, fibroblasts

KEYWORDS: tooth avulsion, Hank balanced saline solution, transport solution, cell viability, fibroblast.

RESUMO

Introdução: um dente avulsionado pode ser reimplantado sem complicações se o reimplante ocorrer nos primeiros 20 minutos quando armazenado em ambiente seco, este tempo pode aumentar de 1 a 3 horas se o dente for colocado em solução de transporte adequada até o momento do reimplante. **Objetivo:** reproduzir uma solução de transporte de uso exclusivo para a viabilidade celular do dente avulsionado no Equador. **Metodologia:** foram utilizados 62 dentes recentemente extraídos, os quais foram armazenados nas diferentes soluções de transporte: leite, salve um dente, solução genérica de Hank (SGH), água, soro fisiológico e Gatorade em diferentes tempos de armazenamento: 30, 60 e 120 minutos, a o terço apical foi raspado com bisturi em uma placa para posteriormente ser corado e analisado ao microscópio. **Resultados:** os maiores valores de viabilidade celular ocorreram na temperatura de 9,5°C, (SGH 75%, soro 70%, água da torneira 70%, leite 60%, gatorade 60%). Porém, a uma temperatura de 23,5°C, o único resultado representativo foi o do SGH com 60% de viabilidade celular enquanto as demais soluções não apresentaram faixas representativas de viabilidade celular (Soro 45%, água da torneira 40%, leite 25%, gatorade 45%). **Conclusões:** o SGH apresentou resultados superiores na viabilidade celular do ligamento periodontal na temperatura de 23,5°C (temperatura ambiente) em relação às demais soluções de transporte

PALAVRAS-CHAVE: avulsão dentária, solução salina balanceada de Hank, solução de transporte, viabilidade celular, fibroplastos.

RECIBIDO: 02/09/2017
ACEPTADO: 02/09/2017

CORRESPONDENCIA: kelvinpcg@gmail.com
DOI: <https://doi.org/10.23878/medicina.v23i1.992>

REV. MED. FCM-UCSG • VOL. 23 • N.º 1 • 2019 • 47-56
ISSN: 1390-0218 e-ISSN: 1390-8464
47

INTRODUCCIÓN

Los altos índices de violencia, accidentes de tránsito y mayor participación de los niños en actividades deportivas, han contribuido a la presentación de lesiones traumáticas dentales (LTD), convirtiéndose en un importante problema de salud oral. La alta prevalencia de LTD reportada en numerosos estudios, el alto impacto en la vida de los niños causado por estos eventos y el gran número de casos en los servicios de urgencias dentales, han contribuido a hacer de éste, un grave problema de salud.¹ El traumatismo a la región oral ocurre con frecuencia y comprende el 5% de todas las lesiones para las cuales es necesario un tratamiento correcto y pertinente tratamiento. En niños en edad preescolar, la cifra llega al 18% de todas las lesiones. Entre todas las lesiones faciales, las lesiones dentales son las más comunes de las cuales se producen avulsiones en 1-16% de lesiones dentales. La avulsión ocurre con mayor frecuencia en el grupo de edad de 7-10 años, cuando el hueso alveolar es elástico y ofrece una resistencia mínima a las fuerzas de extrusión.¹⁶

Cuando tal lesión ocurre, el diente avulsionado debe ser reimplantado inmediatamente en el sitio del accidente para prevenir el daño adicional a las células del ligamento periodontal (PDL) por la desecación.²

La avulsión dental es el tipo más severo de lesión traumática en los dientes, ya que causa daño a varias estructuras y resulta en el desplazamiento completo del diente de su hueso alveolar. El tiempo extraoral es un factor determinante para el éxito de este procedimiento y para un buen pronóstico.^{3,4} El objetivo principal del tratamiento de la avulsión dental es preservar las células del ligamento periodontal que se encuentran unidas a la superficie de la raíz, hasta el momento en que se reimplante el diente. La solución de transporte adecuada para el diente avulsionado puede mantener la viabilidad de las células del ligamento periodontal para aumentar el éxito de su reimplantación. Varios estudios se han llevado a cabo en un intento de encontrar el medio de almacenamiento ideal para preservar las células del ligamento periodontal de los dientes avulsionados.⁵ El éxito de la reimplantación depende de una serie de factores que pueden contribuir a la aparición de reabsorción radicular o anquilosis.¹

La investigación ha demostrado que un diente avulsionado puede ser reimplantado sin complicaciones si se vuelve a insertar en el alveolo dentro de los

primeros 20 minutos cuando se almacena en un medio seco y dentro de una a tres horas si se coloca en una solución de transporte adecuada. Cuando el diente se mantiene seco durante más de 20 minutos, sus células PDL empiezan a necrozarse, y tras la reimplantación, la inflamación y la reabsorción se desarrollan en proporción al tiempo de secado extra-oral.⁶ Además, la falta de conocimiento dental específico puede llevar al paciente a no reimplantar un diente avulsionado de manera oportuna.⁷ El mantenimiento del diente en un medio húmedo adecuado puede preservar, durante más tiempo la vitalidad de las células del ligamento periodontal que permanecen en la superficie de la raíz, siendo esta una clave para el éxito de la reimplantación.³

Muchos medios de almacenamiento como la leche, la saliva, la solución salina balanceada de Hank (HBSS), el Medio Essencial Mínimo (MEM), el propóleo, Viaspan, etc., han sido previamente propuestos como medios de transporte. Entre estos, HBSS se ha propuesto como el medio de almacenamiento de elección para el tratamiento de los dientes avulsionados por las Asociación Americana de Endodoncistas.^{6,8}

La solución salina balanceada de Hank (HBSS), disponible en "Save a tooth (Phoenix-Lazerus, Shartlesville, PA, EE.UU.)", es el medio de almacenamiento preferido para dientes avulsionados. Sin embargo la solución Save-A-Tooth, que contiene HBSS, ha mostrado resultados inferiores a los del producto original, lo cual puede explicarse por el hecho de que el HBSS se prepara para uso inmediato teniendo así un mejor rendimiento.³

La leche ha ganado aceptación como medio de almacenamiento, pues ha demostrado ser más adecuada para los dientes avulsionados por ser una solución isotónica, presentar un pH neutro, tener un bajo o nulo contenido bacteriano, contiene factores de crecimiento y nutrientes esenciales para las células, además de tener una alta disponibilidad en casi todas partes y bajo costo. Al ser una secreción de glándulas, la leche contiene factor de crecimiento epitelial, que estimula la proliferación y regeneración de los restos de células epiteliales de Malassez y activa la resorción ósea alveolar. Esto finalmente contribuirá a aislar el tejido óseo del diente y disminuir la probabilidad de anquilosis. Varios autores que evaluaron la viabilidad de células PDL en contacto con la leche han reportado tasas de supervivencia de 70 a 90% y baja frecuencia de reabsorciones radiculares después de períodos de hasta 72 horas.^{9,3}

El Gatorade es un líquido de rehidratación comúnmente utilizado en campos atléticos. En un estudio realizado por Harkacs et al.,²¹ gatorade no apoyó el mantenimiento de la viabilidad celular de las células del ligamento periodontal. Sospechaban que el pH bajo del gatorade era la principal causa de disminución de la viabilidad celular.¹⁰

Además de los medios de almacenamiento, se ha demostrado que el tiempo extraoral y la temperatura de almacenamiento tienen un efecto sobre el mantenimiento de la viabilidad celular. Los estudios han demostrado que las bajas temperaturas tienen la ventaja de reducir el metabolismo celular y limitar el crecimiento bacteriano, lo que puede afectar el pronóstico del diente para su reimplantación.^{5,11} Sin embargo, la principal desventaja de HBSS y muchos de los otros medios mencionados anteriormente es que no son fácilmente disponibles en lugares donde estas lesiones traumáticas se producen. Por lo tanto, existe la necesidad de un medio de almacenamiento que sea de mayor accesibilidad y presente la misma eficacia.⁶

Cuando se avulsiona un diente, el ligamento periodontal se rompe o se divide con algunos al hueso alveolar y algunos a la raíz del diente. Sigue una cascada de respuestas curativas y los fibroblastos son críticos para la reparación. Los fibroblastos del ligamento periodontal representan casi una cuarta parte de las células del ligamento periodontal. Las células progenitoras responsables de producir fenotipos de fibroblastos se encuentran adyacentes a los canales vasculares de células del ligamento periodontal y hueso alveolar. Esto está estrechamente relacionado con la preservación de una población variada de células viables del ligamento periodontal que se adhieren a las raíces de los dientes avulsionados. El patrón de curación puede ser reparación con cicatrización, que se caracteriza por reabsorción por reemplazo, o regeneración de tejidos del ligamento periodontal con función normal.¹² Las células sanas tienen una morfología semejante a un huso y permanecen unidas a la placa, mientras que las células no saludables se redondean, se arrugan y se separan de la placa.²

METODOLOGÍA

Estudio correlacional, longitudinal y experimental que contó con variables independientes (solución de transporte, tiempo y temperatura) y una variable dependiente (viabilidad de las células del ligamento periodontal). La hipótesis

a comprobar en este estudio es si la solución genérica de Hank es adecuada para la viabilidad de las células del ligamento periodontal

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Se usó 62 piezas dentales, de las cuales 53 fueron terceros molares superiores, 5 terceros molares inferiores, 2 premolares superiores y 2 premolares inferiores, recientemente extraídos por los alumnos de séptimo y octavo ciclo en la cátedra de “Cirugía dentomaxilar y Cirugía bucomaxilofacial”, en la clínica odontológica de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Los pacientes que asistían a la clínica de “Cirugía dentomaxilar y Cirugía bucomaxilofacial”, para la exodoncia de los terceros molares, firmaban un consentimiento informado para donación de órgano dental. Una vez realizada la exodoncia, se analizaba la pieza dental, y se revisaba que cuente con los criterios de inclusión.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Pacientes que sean mayores de 18 años
- Pacientes con terceros molares y premolares completamente erupcionados que acudan a la clínica de Cirugía dentomaxilar y Cirugía bucomaxilofacial de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, para realizarse su extracción dental.
- Pacientes que firmen el documento Consentimiento informado para donación de órgano dental
- Dientes que se encuentren completos al momento de la extracción
- Cirugías atraumáticas

Los criterios de exclusión fueron:

- Pacientes menores de 18 años
- Pacientes que no presenten terceros molares ni premolares completamente erupcionados
- Pacientes que no deseen firmar el consentimiento informado para donación de órgano dental
- Dientes que tengan que realizarse odontosección u osteotomía para su extracción
- Dientes que hayan sido lavados con suero fisiológico al momento de su extracción
- Dientes que no estén enteros al momento de su extracción
- Dientes que presenten lesión periapical
- Dientes con enfermedad periodontal
- Dientes que presenten movilidad previa a la extracción

- Dientes que al momento de su extracción presenten en sus raíces residuos de cresta ósea
- Dientes con caries grado 6 según la clasificación de ICDAS

SOLUCIONES DE TRANSPORTE

Las diferentes soluciones de transporte usadas en este estudio fueron:

- Solución Salina Balanceada de Hank (Save a Tooth)
- Agua de la llave
- Leche ultrapasteurizada semidescremada
- Suero fisiológico (Solución salina)
- Gatorade (sabor manzana)
- Solución genérica de Hank: Solución recientemente elaborada para este estudio en Guayaquil, en el laboratorio Kobalto, creada con el fin de reproducir una solución de transporte con los efectos de la preservación de las células del ligamento periodontal similares a la solución salina balanceada de Hank original. La fórmula fue extraída de CTR SCIENTIFIC¹³ Un litro de la solución contiene: cloruro de sodio NaCl, 8.0 g/litro; cloruro de potasio KCl, 0.4 g/litro; sulfato de magnesio $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2 g/litro; cloruro de calcio dihidratado $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.185 g/litro; fosfato de disodio Na_2HPO_4 , 0.046 g/litro; fosfato de potasio monobásico KH_2PO_4 , 0.06 g/litro; glucosa, 1.0 g/litro; bicarbonato de sodio, 0.35 g/litro

TEMPERATURA

Se tomó la temperatura de todas las soluciones de transporte con un termómetro digital marca "DIGITAL THERMOMETER JR-1" antes de que las piezas dentales fueran sumergidas en ellas. Para comprobar si la temperatura influía en la preservación de las células del ligamento periodontal, se usaron 2 temperaturas, una fue a 9.5°C la cual era la temperatura de la solución almacenada en una hielera con abundante hielo para mantener esa temperatura. La otra fue a temperatura ambiente, en este caso fue de 23.5°C.

Preparación de muestras para ser colocadas en la solución de transporte

Una vez que las piezas dentales eran aptas para este estudio, fueron almacenadas en una funda plástica individual y fueron separadas en diferentes grupos para ser colocadas en las diferentes soluciones de transporte:

- Grupo 1: 32 Piezas dentales que estuvieron 15 minutos en seco, después de su extracción.
- Grupo 2: 30 Piezas dentales que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción.

Cada solución de transporte era almacenada en envases nuevos para muestra de orina (PRO-DUCTO ESTERIL UV). Cada envase contenía 20 ml de solución de transporte (12 envases por cada solución de transporte) que podía almacenar solo una pieza dental extraída, a excepción del Save a tooth, que contaba con su envase propio, en el cual se colocaron las 2 muestras únicas (2 muelas del mismo paciente).

Tiempos de almacenamiento de las muestras

Las muestras tenían que pasar sumergidas en la solución de transporte por un tiempo establecido para de este modo analizar que solución de transporte tiene mayor viabilidad celular a diferentes tiempos de almacenamiento.

Debido a la dificultad para su obtención solo se pudieron analizar 2 muestras (dentro del grupo 2 y grupo 3, que contaron con 6 muestras en vez de 5) con la solución de transporte Save a tooth. Por cada grupo había 5 envases (a excepción del grupo 2 y 3 que tenían 6 envases por el Save a tooth); cada uno con una solución de transporte diferente, y se colocaba una pieza dental en cada envase. Los grupos se ordenaron de la siguiente manera:

- Grupo 1(15/30): 5 Piezas que estuvieron 15 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 30 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 9.5 C°.
- Grupo 2(15/60): 6 Piezas que estuvieron 15 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 60 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, solución balanceada de Hank (Save a tooth) leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 9.5 C°.
- Grupo 3(15/120): 6 Piezas que estuvieron 15 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 120 minutos en una solución de transporte

(Solución salina balanceada de Hank (Save a Tooth), solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 9.5°C

- Grupo 4(30/30): 5 Piezas que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 30 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 9.5°C.
- Grupo 5(30/60): 5 Piezas que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 60 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 9.5°C.
- Grupo 6(30/120): 5 Piezas que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 120 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 9.5°C.
- Grupo 7(15/30): 5 Piezas que estuvieron 15 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 30 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 23.5°C.
- Grupo 8(15/60): 5 Piezas que estuvieron 15 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 60 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 23.5°C.
- Grupo 9 (15/120): 5 Piezas que estuvieron 15 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 120 minutos en una solución de transporte (solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 23.5°C.
- Grupo 10 (30/30): 5 piezas que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción, y

luego fueron sumergidas durante 30 minutos en una solución de transporte (solución genérica a la solución balanceada de hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 23.5°C.

- Grupo 11(30/60): 5 Piezas que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 60 minutos en una solución de transporte (Solución genérica a la solución balanceada de Hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 23.5°C.
- Grupo 12 (30/120): 5 Piezas que estuvieron 30 minutos en seco después de su extracción, y luego fueron sumergidas durante 120 minutos en una solución de transporte (solución genérica a la solución balanceada de hank, leche pasteurizada semidescremada, agua de la llave, suero fisiológico, gatorade) a temperatura de 23.5°C.

TINCIÓN DE MUESTRAS

Una vez que las muestras habían cumplido con su tiempo de almacenamiento, pasaron por un proceso de tinción para poder ser analizadas bajo el microscopio dentro de los laboratorios de histología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Fueron teñidos con tinción de hematoxilina y eosina, la cual es muy favorable para demostrar fibras elásticas de células vivas. De este modo se pudieron apreciar las células viables (las que se tiñen y presentan forma bien definida) de las no viables (no se tiñen, no tienen forma definida) o en proceso de necrosis.

La hematoxilina y la eosina se utilizan en histología principalmente para poner en evidencia las características estructurales,^{14,15} la cual fue de gran ayuda para poder evidenciar las células del ligamento periodontal presentes en las diferentes soluciones de transporte.

Se procedió a realizar un rasapaje radicular, del tercio apical de las raíces de los dientes extraídos, con un bisturí #15 sobre una placa portaobjeto, para obtener las células del ligamento periodontal.⁶ Una vez que la muestra estaba sobre la placa portaobjeto se fijaba la placa, colocando alcohol antiséptico por 3 minutos sobre la placa portaobjeto, luego se colocó la placa en hematoxilina por 5 minutos, después se enjuagó la muestra 5 veces en agua

(para retirar excesos de hematoxilina) para luego ser sumergidas en eosina por 3 minutos, se enjuagó la muestra 5 veces en agua destilada (para retirar excesos de eosina), y se deshidrata la muestra enjuagándola 5 veces con alcohol, se deja secar la muestra por 5 minutos. Una vez que la muestra este seca se coloca entellan en la placa portaobjeto para poder montar la laminilla cubreobjeto sobre la placa portaobjeto, obteniendo de este modo las placas teñidas para poder ser analizadas bajo el microscopio.

ANÁLISIS MICROSCÓPICO

Para su análisis se utilizó microscopio óptico marca Olympus, Modelo CX22LED, se analizó el raspado del tercio apical de los dientes teñidos con tinción de hematoxilina y eosina bajo el microscopio con visualización de los frotis o extendidos citológicos con valorización de los fibroblastos viables o en necrosis, conteo porcentual comparativo entre el número de células viables y necróticas en diferentes campos (4 campos analizados por cada muestra), utilizando magnificación 10x y 40x.

Para el conteo se tomo en cuenta 4 campos en cada muestra, y cuantas células se encontraban por campo, una vez realizado el conteo de las células, se procedía a realizar un conteo porcentual de cuántas de esas células eran viables.

RESULTADOS

En la tabla de valores se muestran dos tiempos, el primero es el tiempo que la muestra estuvo en seco después de su extracción (15-30) el segundo es el tiempo que la muestra estuvo sumergida en la solución de transporte (30-60-120) hasta que se la tiñó para ser analizada bajo el microscopio.

La tabla de valores que se muestra en la figura 1, representa el porcentaje de viabilidad celular en las muestras, puestas en diferentes soluciones de transporte a las 2 temperaturas; 9.5° C y 23.5° C y a diferentes tiempos de almacenamiento de las muestras en las soluciones de transporte.

A la temperatura de 9.5°C se obtuvieron los mejores resultados con las siguientes soluciones de transporte: leche (53%), gatorade (50.83) y solución genérica de Hank (50%). El tiempo de inmersión que preservó mayor viabilidad celular fue a 30 minutos con (67.50%).

Se ven similares resultados al comparar el Save a tooth y la solución genérica de Hank. A la temperatura de 23.5°C el mejor resultado se obtuvo con la solución genérica de Hank (35.83%).

El tiempo de inmersión que preservó mayor viabilidad celular fue a 120 minutos con (47.50%).

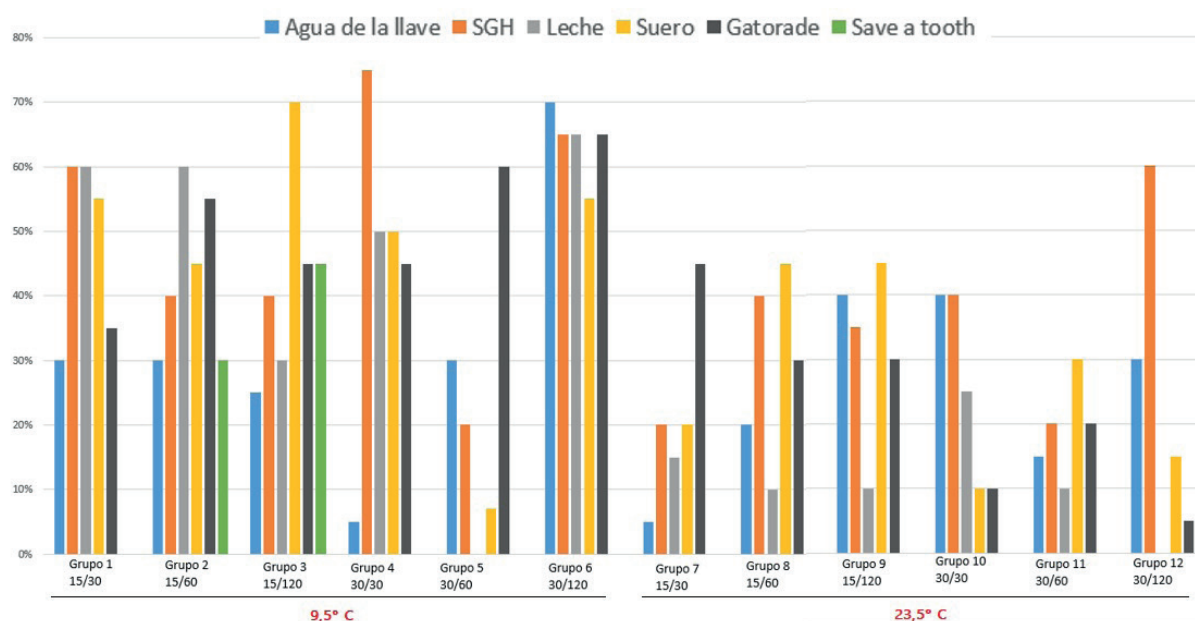


Figura 1. La tabla de valores muestra el porcentaje de viabilidad celular que se encontró en las diferentes muestras usando diferentes soluciones de transporte; agua de la llave, solución genérica de Hank (SGH), leche, suero fisiológico (suero), gatorade y solución balanceada de Hank (Save a tooth) en diferentes tiempos a las que las muestras fueron sumergidas en las soluciones de transporte.

Los dientes almacenados en la solución genérica de Hank (SGH), presentaron valores más altos que otras soluciones, en los siguientes casos: 30/30 minutos a 9.5° C con 75% de viabilidad celular, a 30/120 minutos a 23.5°C con 60% de viabilidad celular. A 15/30 minutos a 9.5°C presenta resultados similares a la leche con 60% de viabilidad celular, y a 30/30 minutos a 23.5°C presenta resultados similares al agua de la llave con 40% de viabilidad celular.

SAVE A TOOTH

Los dientes almacenados en save a tooth, presentaron los siguiente valores a 15/60 minutos a 9.5°C con 45% de viabilidad celular, y a 15/120 minutos a 9,5°C con 30% de viabilidad celular.

SUERO FISIOLÓGICO

Los dientes almacenados en suero fisiológico presentaron valores más altos que otras soluciones, en los siguientes casos: 15/120 minutos a 9.5°C con 70% de viabilidad celular, a 15/60 y 15/120 minutos a 23.5°C con 45% de viabilidad celular, y a 30/60 minutos a 9.5°C con 30% de viabilidad celular.

GATORADE

Los dientes almacenados en gatorade presentaron valores más altos que otras soluciones, en los siguientes casos: 30/60 minutos a 9.5°C con 60% de viabilidad celular y a 15/30 minutos a 23.5°C con 45% de viabilidad celular.

LECHE

Los dientes almacenados en leche presentaron valores más altos que otras soluciones, en el siguiente caso: 15/60 minutos a 9.5°C con 60% de viabilidad celular. A 15/30 minutos a 9.5°C presenta resultados similares a la solución genérica de Hank con 60% de viabilidad celular

AGUA DE LA LLAVE

Los dientes almacenados en agua de la llave presentaron valores más altos que otras soluciones, en el siguiente caso: 30/120 minutos a 9.5°C con 70% de viabilidad celular. A 30/30 minutos a 23.5°C presenta resultados similares a la solución genérica de Hank con 40% de viabilidad celular

TEMPERATURA

Los valores más altos de viabilidad celular (75%, 70%, 65%, 60%) se dieron en la temperatura de 9.5 °C, todas las soluciones de transporte dieron resultados representativos con esta temperatura (SGH 75%, suero 70%, agua de la llave 70%, leche 60%, gatorade 60%). Sin embargo a la temperatura de

23.5°C, el único resultado representativo fue el de la solución genérica de Hank con 60% de viabilidad celular, mientras que las otras soluciones no presentaban rangos representativos de viabilidad celular (suero 45%, agua de la llave 40%, leche 25%, gatorade 45%).

TIEMPOS

El tiempo en seco (15-30 minutos) no presentó diferencia estadística significativa ($p>0.05$), siendo el promedio de viabilidad a 15 minutos de 36,41% y a 30 minutos de 35,43% como se muestra en la tabla 1.

TABLA 1. PROMEDIO DE VIABILIDAD CELULAR ENTRE SOLUCIONES DE TRANSPORTE Y TIEMPO EN SECO

PROMEDIO DE % VIABILIDAD CELULAR	TIEMPO EN SECO		
Soluciones de transporte	15	30	Total general
Agua	25,00	31,67	28,33
Gatorade	40,00	34,17	37,08
Leche	30,83	37,50	33,50
Save a tooth	37,50		37,50
SGH	39,17	46,67	42,92
Suero	46,67	27,83	37,25
Total general	36,41	35,43	35,95

La tabla 2 muestra el promedio de los resultados más altos en cuanto a viabilidad celular, a temperatura ambiente (23.5°C) de acuerdo al tiempo de inmersión, que fueron los siguientes: a 30 minutos 23%. A 60 minutos 24% y a 120 minutos 25.52%. A temperatura más baja (9.5°C) de acuerdo al tiempo de inmersión, los resultados se muestran en la tabla 3, y fueron los siguientes: a 30 minutos 46,50%, a 60 minutos 37,70% y a 120 minutos 52,27%.

TABLA 2. PROMEDIO DE VIABILIDAD CELULAR ENTRE SOLUCIONES DE TRANSPORTE Y TIEMPO DE INMERSIÓN A 9.5°

PROMEDIO DE % VIABLES	TIEMPOS DE INMERSIÓN			
Soluciones de transporte	30	60	120	Total general
Agua	17,50	30,00	47,50	31,67
Gatorade	40,00	57,50	55,00	50,83
Leche	55,00	60,00	47,50	53,00
Save a tooth		30,00	45,00	37,50
SGH	67,50	30,00	52,50	50,00
Suero	52,50	26,00	62,50	47,00
Total general	46,50	37,70	52,27	45,71

HALLAZGOS

Dentro de las muestras hubieron hallazgos que pudieran ser representativos, en este caso fue

el estado físico del diente, clasificado con estas observaciones: piezas con caries en su corona, piezas con tabla ósea en su raíz, piezas con restos de ligamento periodontal, piezas con resina en su corona. Además de presentar también piezas dentales completamente sanas. Por lo que se realizó un análisis de correlación entre este hallazgo y los resultados de viabilidad obtenidos con un resultado de 0,15, lo que indica que no existe evidencia estadística de relación entre la condición del diente y la viabilidad

TABLA 3. PROMEDIO DE VIABILIDAD CELULAR ENTRE SOLUCIONES DE TRANSPORTE Y TIEMPO DE INMERSIÓN A 23.5°

Soluciones de transporte	TIEMPOS DE INMERSIÓN			
	30	60	120	Total general
Agua	22,50	17,50	35,00	25,00
Gatorade	27,50	25,00	17,50	23,33
Leche	20,00	10,00	10,00	14,00
Genérica	30,00	30,00	47,50	35,83
Suero	15,00	37,50	30,00	27,50
Total general	23,00	24,00	30,00	25,52

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Según la prueba de hipótesis realizada con un valor $p < 0.05$ se determina que existe diferencia estadística entre los resultados obtenidos a diferentes temperaturas en promedio a menor temperatura se obtuvo mayor viabilidad celular. Según la prueba de hipótesis realizada con un valor $p > 0.05$ se determina que no existe diferencia estadística significativa entre los tiempos en seco como se muestra un resumen en la tabla 1. Sin embargo en tiempos de inmersión muestran promedios de viabilidad diferentes para cada temperatura, según se muestran en la tabla 2 y 3.

DISCUSIÓN

El pronóstico favorable o desfavorable de la avulsión dental depende de algunos factores, entre ellos se destaca su medio de transporte. Se ha recomendado la solución salina balanceada de Hank (HBSS), disponible comercialmente como Save-A-Tooth® (Phoenix-Lazerus, Shartlesville, PA, EE.UU.) como medio de almacenamiento para mantener la viabilidad celular del ligamento periodontal.³

En el Ecuador no existe una solución de transporte para uso exclusivo de dientes avulsados, que sea de fácil adquisición, tanto para el profesional como para el paciente. Ciertos estudios mencionan, que la leche podría ser

una opción para países donde no se consigue la solución salina balanceada de Hank o la presentación comercial Save A Tooth.

Con el presente estudio se quiso probar la efectividad de una solución de transporte reproducible en el Ecuador, capaz de mantener viables las células del ligamento periodontal, la cual fue elaborada a partir de la fórmula original de la solución salina balanceada de Hank (HBSS). Sin embargo, se ha mencionado que el Save A Tooth, que contiene HBSS, ha mostrado resultados inferiores a los del producto original, lo cual puede explicarse por el hecho de que el HBSS se prepara para uso inmediato teniendo así un mejor rendimiento.³

De Souza et al en el 2016, menciona que a 3 horas de almacenamiento en leche, se pueden obtener los mejores resultados de viabilidad celular, seguido por la solución salina balanceada de Hank, Save a tooth y finalmente el agua. En el presente estudio con las piezas extraídas en la UCSG, el tiempo máximo de almacenamiento utilizado fue de 2 horas, resultando la solución genérica de Hank, como el mejor medio para preservar la viabilidad celular, seguida por el agua de la llave, suero fisiológico, el gatorade y finalmente la leche, contradiciéndose con los resultados expuestos por De Souza et al.⁵

La solución genérica de Hank presentó resultados altos (35.83%) a temperatura ambiente (23.5°C) en comparación con las otras soluciones de transporte; suero (27.50%), agua (25%), gatorade (23.33%), leche (14%), resultados que fueron similares a los mencionados por Sigalas et al.⁹

Sin embargo a baja temperatura (5°C) la solución genérica de Hank presentó resultados altos (50%), pero fue superado por la leche (53%) y el gatorade (50.83%), las otras soluciones de transporte presentaron los siguientes porcentajes: suero (47%), Save a tooth (37,50%) y agua (31,67%). Por lo que se puede considerar la temperatura como un factor importante para la viabilidad celular, como menciona Sigalas y Udoe et al .

Sigalas menciona que la leche a temperaturas bajas presenta mejores resultados que las otras soluciones, algo que se comprobó con este estudio, así mismo menciona que el gatorade (a temperaturas bajas) puede ser usado por cortos tiempos como medio de almacenamiento, en caso de que otras soluciones de transporte (leche

y solución salina balanceada de Hank) no estén disponibles. Los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron similares al del estudio de Sigalas et al en cuanto a la alta viabilidad que presenta el gatorade.^{9,12} la leche presentó los mejores resultados en cuanto a viabilidad celular (53%), resultados que coinciden con lo que menciona Casaroto en su estudio en el 2010 acerca de la efectividad de la leche en comparación con las otras soluciones, en cuanto a preservación de las células del ligamento periodontal.¹⁷

A pesar de haber tratado de seguir todos los parámetros propuestos para realizar la metodología del presente estudio, se tuvieron ciertas limitaciones: 1) el número de dientes en los grupos experimentales individuales fue limitado, el incremento de la muestra ciertamente aumentaría el poder estadístico de este estudio, debido a la dificultad de conseguir piezas recientemente extraídas que cumplan con los parámetros de inclusión. 2) El trauma que se ejerce al momento de la extracción de la pieza es un factor importante para la viabilidad de las células del ligamento periodontal, lamentablemente en algunos casos se necesitó realizar un procedimiento más agresivo para la extracción, por lo que podría verse afectada la viabilidad celular. 3) No se pudo hacer una comparación estadística entre la viabilidad del Save a Tooth con la solución genérica de Hank, debido a la falta de muestras con Save a Tooth, y la dificultad de conseguir el producto en Ecuador. 4) Los dientes más comúnmente avulsionados son los incisivos centrales y laterales permanentes; sin embargo, en el presente estudio se utilizaron premolares y terceros molares, por lo tanto, existe una probabilidad de mayor número de células, ya que la superficie de la raíz es mucho mayor en comparación con los incisivos centrales y laterales. Por lo tanto, no se puede descartar la posibilidad de obtener un resultado menos favorable cuando se utiliza para preservar incisivos avulsionados.

CONCLUSIONES

Debido a la dificultad para conseguir la solución balanceada de Hank (Save a Tooth) en Ecuador, se realizó este estudio con la finalidad de reproducir una solución con la fórmula original de la solución salina balanceada de Hank en el país, que tenga resultados favorables en cuanto a viabilidad celular del ligamento periodontal. No se logró una comparación estadística confiable entre el Save a Tooth y la SGH, debido a la baja

muestra que se obtuvo del Save a Tooth, al ser de difícil adquisición en Ecuador. La SGH presentó resultados superiores en cuanto a viabilidad celular del ligamento periodontal a temperatura de 23.5°C (temperatura ambiente) en comparación con las soluciones de transporte usadas en este estudio. Sin embargo a temperatura de 9.5°C fue superada por el gatorade y la leche.

En cuanto a la temperatura, ésta influyó considerablemente de manera positiva en la viabilidad celular del ligamento periodontal, teniendo valores más altos a temperatura de 9.5°C.

Respecto al tiempo en el que se mantuvieron las muestras en seco, se comprobó que no influyó en la preservación de la viabilidad celular. Mientras que el tiempo en el que se mantuvieron sumergidas las muestras en cada una de las soluciones de transporte, se demostró que en 120 minutos se mantuvo la mayor viabilidad celular.

Tomando en cuenta la eficacia, disponibilidad y fácil accesibilidad que presenta la leche, parece ser el medio ideal de transporte para el diente avulsionado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De França RÍ, Traebert J, De Lacerda JT. Brazilian dentists' knowledge regarding immediate treatment of traumatic dental injuries. *Dent Traumatol.* 2007;23(5):287-90.
2. Marino TG, West L a, Liewehr FR, Mailhot JM, Buxton TB, Runner RR, et al. Determination of periodontalligament cell viability in long shelf-life milk. *J Endod [Internet].* 2000;26(12):699-702. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11471636>
3. Poi WR, Sonoda CK, Martins CM, Melo ME, Pellizzer EP, de Mendonça MR, et al. Storage media for avulsed teeth: A literature review. *Braz Dent J.* 2013;24(5):437-45.
4. Lauracio C, Ramos W, Padilla T, Catacora P. Viabilidad de las células del ligamento periodontal en diferentes medios de almacenamiento y transporte. 2013;10(2):91-5.
5. de Souza BDM, Bortoluzzi EA, Reyes-Carmona J, dos Santos LGP, Simões CM de O, Felipe WT, et al. Effect of temperature and seven storage media on human periodontal ligament fibroblast viability. *Dent Traumatol.* 2017;33(2):100-5.
6. Sharma M, Sharma S, Reddy YG, Mittal R, Agarwal V, Singh C, et al. Evaluation of Periodontal

- Ligament Cell Viability in Three Different Storage Media : An in Vitro Study. 2015;524-32.
7. George J, Ramachandra PK, Rudranaik S, Sahadev C, Thomas A, Bharath M. Comparative evaluation of four transport media for maintaining cell viability in transportation of an avulsed tooth - An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent* [Internet]. 2015;5(1):69. Available from: <http://www.jispcd.org/text.asp?2015/5/1/69/151981>
 8. Giannetti L, Murri A, Vecchi F, Gatto R. Dental avulsion: therapeutic protocols and oral health-related quality of life. *Eur J Paediatr Dent*. 2007;8(2):69-75.
 9. Sigalas E, Regan JD, Kramer PR, Witherspoon DE, Opperman LA. Survival of human periodontal ligament cells in media proposed for transport of avulsed teeth. *Dent Traumatol*. 2004;20(1):21-8.
 10. Mousavi B, Alavi SA, Mohajeri MR, Mirkheshti N, Ghassami F, Mirkheshti N. Standard oral rehydration solution as a new storage medium for avulsed teeth. *Int Dent J*. 2010;60:379-82.
 11. De Souza BDM, Alves AMH, Dos Santos LGP, Simões CM de O, Felipe WT, Felipe MCS. Fibroblast viability after storage at 20 °C in milk, Hank's balanced salt solution and coconut water. *Braz Dent J*. 2016;27(4):404-7.
 12. Udoye CI, Jafarzadeh H, Abbott P V. Transport media for avulsed teeth: A review. *Aust Endod J*. 2012;38(3):129-36.
 13. Av. DEC V, No L, Norte M. Hoja De Datos De Seguridad Solucion Salina De Hank `S Solucion Salina De Hank `S.
 14. Sanitaria C, Paz L. Fluorescencia selectiva de estructuras eosinófilas en secciones teñidas con hematoxilina-eosina . *Society*. 1994;335-41.
 15. Ross M, Pawlina W. Técnica histológica y microscopia. *Histol Texto/Atlas Color con Biol Cel y Mol* [Internet]. 2012;1009. Available from: <http://www.berri.es/pdf/HISTOLOGIA, Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular/9789500603225>
 16. Saini D, Gadicherla P, Chandra P, Anandakrishna L. Coconut milk and probiotic milk as storage media to maintain periodontal ligament cell viability: an in vitro study. *Dent. Traumatol* 2017; 33:160-164.
 17. Casaroto AR, Hidalgo MM, Sell AM, Franco SL, Cuman RKN, Moreschi E, et al. Study of the effectiveness of propolis extract as a storage medium for avulsed teeth. *Dent Traumatol*. 2010;26(4):323-31.